

المضادات الميكروبية المحتملة للعصيات الليفية ضد سلالات الكنديا العالقة والملتصقة

رسالة مقدمة من

الطبيبة

فاطمة ابو النجا احمد نصر

توطئة للحصول على درجة الدكتوراه
فى الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة

تحت اشراف

أ.د احمد اشرف وجدان

استاذ الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة
كلية الطب- جامعة الفيوم

د. رشا حامد احمد بسيونى

استاذ مساعد الميكروبيولوجيا الطبية والمناعة
كلية الطب- جامعة الفيوم

جامعة الفيوم

2017

الملخص العربي

هو عدوى الجهاز التناسلي الأنثوي الذي يحدث نتيجة VVC داء الكنديديا الفرجى المهبلي لفصائل الكنديديا. هناك العديد من عوامل الخطر لتطور داء الكنديديا الفرجى المهبلي مثل السن المتقدم للإنجاب ، والحمل ، ومرض السكري ، وسائل منع الحمل الهرمونية، والاستخدام الحديث للمضادات الحيوية . قد يؤدي ارتفاع السكر في الدم إلى ضعف خلايا الدم البيضاء مثل والتصاق هذه الخلايا ، الانجذاب monocytes و المنوسيت neutrophil النيوتروفيل الكيميائي، البلعمة لها. كما ان زيادة مستوى الجلوكوز في الأنسجة المصابة يزيد من التصاق وغزو الكنديدا.

مهمة من اجل قدرتها الإمبراضية ، وخاصة *Candida* وقد تبين أن العديد من خصائص الكنديدا الالتصاق بأسطح خلايا المريض و الأجهزة الطبية ،التحولات التخلفيه العكسيه بين الخميرة aspartyl proteinases والنمو الخيطي ، الأنزيمات المحلّمة المفرزه مثل الاسبرتيل بروتينياز معزولة *Candida* وشملت دراستنا ٦٠ سلالة كنديدا *phospholipases* ، الفوسفوليبياز خلال رسالة الماجستير. تم عزل هذه السلالات من مهبل الإناث المصابات بداء الكنديدا الفرجى المهبلي .

ذكرت دراستنا السابقة ارتفاع معدل انتشار داء الكنديدا الفرجى المهبلي بين النساء المصابات بالسكري. ان النتائج في دراستنا السابقة قد عززت أهمية مرضى السكري كمستودع للكنديدا الأكثر انتاجا للفوسفوليبياز عنها في غير مريضات السكري. *glabrata Candida* جلوبراتا هذه الملاحظة تسلط الضوء على الحاجة إلى تحديد عوامل الخطر الأخرى مثل الاسبرتيل . ان الكنديدا biofilm وتكوين البيوفيلم secreted aspartyl proteinase بروتينياز المفرز هم أكثر مقاومة من نظرائهم العالقه لمختلف عناصر مضادات *Candida* biofilms بيوفيلمز الفطريات لذلك تم فحص حساسية خلايا الكنديدا العالقه والملتصقه لمضادات الفطريات. بواسطة extracellular aspartyl خارج الخلية الفحص المظهري لانزيم الاسبرتيل بروتينياز المفرز فان نشاطا قويا للبروتينياز قد اظهر بدرجه عاليه بالكنديدا المعزولة من عينات proteinase المهبل من الإناث المصابات بالسكري، تم الكشف عن (٨٢.٥٪). لقد وجدنا إنتاج جوهري عالي و جلوبراتا في مجموعة مرضى السكري. *C. albicans* للبروتينياز من قبل الكنديدا البيكانس بين الكنديدا المعزوله ، تم الكشف عن اختلافات غير *SAP1-8* من خلال دراسة انتشار الجينات الجينات الأكثر اكتشافا في كلا *SAP1* و *SAP2* جوهريه بين المجموعات المختبرة، وكانت المجموعتين (١٠٠٪ و ١٠٠٪ على التوالي لغير المصابين بالسكري) مقابل (٩٥٪ و ٩٥٪

٪ لغير 80 (SAP3 و) ٪ لكلا الفريقيين 75 (SAP5 على التوالي لمرضى السكري)، يليه مقابل (67٪ لمرضى السكري). (المصابين بالسكري كشفت دراستنا أنه من أصل 60 سلالة 48 (80.0٪) كانوا منتجين للبيوفيلم. في معظم الأحيان 27 (45٪)، يليه الكنديدا *C. albicans* كان إنتاج البيوفيلم ملحوظا بكثرة في الكنديدا البيكانس 18 (30٪) وغير البيكانس غير جلوبراتا 3 (5٪). كان إنتاج البيوفيلم *C. glabrata* جلوبيراتا متكرر بشكل ملحوظ بين الكنديدا المعزولة من مرضى السكري عن الإناث الغير مصابات بالسكري. من أصل 40 سلالة من بين مجموعة مرضى السكري 37 (92.5٪) كانوا منتجين للبيوفيلم. كانت 11 من 20 (55٪) في مجموعة غير المصابات بالسكري منتجين للبيوفيلم. بين السلالات الإيجابية للبيوفيلم ، لوحظ أن أعلى كثافة إنتاج للبيوفيلم كانت في مجموعة مرضى السكري 7 (17.5٪) مقابل 0 (0٪) في مجموعة الغير مصابات بالسكري. ضد *L. acidophilus* كذلك تم استخدام طريقة الانتشار لتحديد النشاط التثبيطي للعصيات اللبنية سلالات الكنديدا. لقد تم الحصول على تأثير مثبت مرتفع خلال استخدام الطافي من العصيات اللبنية. وقد كشفت النتيجة عن أن تركيزات 12.5 ٪، و 25 ٪ لا تأثير لها علي سلالات الكنديدا ٪ قلة نمو الكنديدا. أدى تركيز 100٪ إلى 50 عندما لوحظ نموا واضحا، في حين أن تركيز انخفاض حاد في نمو الكنديدا المعزولة. *Lactobacilli* probiotic تم تقييم الفحص الثانوي للأنشطة المثبطة للنمو للعصيات اللبنية . كان plate-based microtitre assay باستخدام فحص الطبق المعتمد على عيار الميكرو للعصيات اللبنية تأثير واسع المدى مضاد للفطريات ، مع نشاط ضد 53 (88.3٪) من أصل 60 خلية كنديدا عالقة. كان للعصيات اللبنية تأثير واسع المدى مضاد للفطريات ضد الكنديدا بيوفيلم. 45 (91.8٪) كتلة بيوفيلم من 48 تم تخفيضها إلى 50٪ بحلول الطافي من العصيات اللبنية. ان 36 كتلة (73.5٪) بيوفيلم من أصل 48 منتجين للبيوفيلم قد خفضت إلى 90٪. من خلال دراسة العلاقة بين التأثير المضاد للفطريات للعصيات اللبنية والسكري دراستنا لم تتمكن من الكشف عن اختلاف كبير بين غير المصابات بالسكري ومجموعة المصابات بالسكري. وكشفت هذه الدراسة أن التركيز المثبط الأدنى ل50٪ من الكنديدا المعزولة (كان تركيز 50٪. ان التركيز المثبط الأدنى ل90٪ من خلايا الكنديدا (MIC50) 100٪. كان تركيز تدمير البيوفيلم ل50٪ من خلايا الكنديدا كان تركيز (MIC90) العالقة (هو تركيز 50٪ ، في حين كان تركيز تدمير البيوفيلم ل90٪ من خلايا (BEC50) الملتصقة 100٪. هو تركيز (BEC90) الكنديدا الملتصقة

تم تقييم التركيز المثبط الأدنى للفوريكونازول باستخدام فحص الطبق المعتمد على عيار الميكرو plate-based microtitre assay.

Voriconazole وجدت دراستنا مقاومة جوهرية اعلي لخلايا الكنديدا العالقه للفوريكونازول . tea (Kombucha) بمفرده عن الجمع بينه وطافي العصيات اللبنيه أو مع شاي الكامبوشا (بمفرده التي أصبحت Voriconazole كانت هناك ٥٧ (٩٥.٠٪) سلالة مقاومة للفوريكونازول tea ٤١ (٦٨.٣٪) من خلال إضافة طافي العصيات اللبنيه. عندما أضفنا طافي شاي الكامبوشا (للفوريكونازول وجدنا أن ٥٦ (٩٣.٣٪) سلالة كانت مقاومة لهذا الجمع. tea (Kombucha) من خلال دراسة العلاقة بين سلالات الكنديدا و مقاومة مضادات الفطريات بين خلايا الكنديدا العالقة وجدنا أنه لا يوجد فرق كبير بين الأنواع المختلفة.

نحن لم نكشف عن علاقة بين مرض السكري و مقاومة خلايا الكنديدا العالقه للفوريكونازول (٪) سلالة من بين مجموعة مرضى السكري كانت مقاومة للفوريكونازول. انخفضت 40 (100) هذه السلالات المقاومة الى ٣١ (٧٧.٥٪) من خلال إضافة طافي العصيات اللبنيه. كان لطافي الكمبوشا تأثير صغيراً، ٣٨ (٩٠٪) سلالة بقيت مقاومة للفوريكونازول.

و التركيز المثبط الأدنى (MIC50) وقد انخفض التركيز المثبط الأدنى ل ٥٠% من الخلايا بشكل كبير عن طريق الجمع بالعصيات اللبنية . (MIC90) ل ٩٠%

Voriconazole 8501.6 ± 7438.03 بلغت قيمة متوسط اقل تركيز مثبط للفوريكونازول ميكروجرام / مل التي انخفضت بشكل ملحوظ إلى ٥١٥.٩ ± ٨٩٨.٥ ميكروجرام / مل بإضافة والفوريكونازولKombucha طاف اللبنية. كان لاقل تركيز مثبط لمزيج شاي الكمبوشيا . قيمة تساوي ٢٦٤٧.٢ ± ٥٢٢٤.٧ ميكروجرام / ملVoriconazole

من خلال دراسة العلاقة بين فصائل الكنديدا و اقل تركيز مثبط لمضادات الفطريات بين الخلايا كانت Voriconazole العالقه ، وجدنا ان القيمة المتوسطة لاقل تركيز مثبط للفوريكونازول . عن الانواع الاخرى *C. glabrata* اعلي بكثير بين الكنديدا جلوبراتا

لقد وجدنا أن إضافة إما العصيات اللبنية أو طافي شاي الكامبوشا للفوريكونازول يؤدي إلى انخفاض كبير في عدد الخلايا التي لم يقضي عليها. لم تخفض كتلة ٣٥ (٧٢.٩٪) بيوفيلم إلى ٩٠٪ بلفوريكونازول. مزيج الفوريكونازول مع طافي العصيات اللبنية لم يتمكن من أن يقلل من ٩٠٪ من الكثافة البصرية ل ١٩ (٣٩.٥٪) بيوفيلم فقط.

كانت خلايا الكنديدا الملتصقة شديدة المقاومة للفوريكونازول. كان متوسط تركيز الفوريكونازول ميكروجرام / مل. ان إضافة 8365. ± 6045.08) BEC₅₀ المدمر ل ٥٠% من البيوفيلم (طافي العصيات اللبنيه للفوريكونازول ادي الي تقليل التركيز المدمر ل ٥٠% من

ميكروجرام / مل . كان 1472.6 ± 4274.3 بدرجة بالغه الاهمية الي (BEC_{50}) البيوفيلم
(BEC_{90}) 11718.9 ± 8357.8 متوسط تركيز الفوريكونازول المدمر ل ٩٠% من البيوفيلم)
ميكروجرام / مل والذي انخفض بدرجة بالغه الاهمية باضافة طافي العصيات اللبنية
. ميكروجرام / مل 4550.9 ± 6083.9 الى